## **PCT**

#### WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM Internationales Büro



(51) Internationale Patentklassifikation 6: (11) Internationale Veröffentlichungsnummer: WO 97/26910 A2 A61K 39/00, 39/385 (43) Internationales Veröffentlichungsdatum: 31. Juli 1997 (31.07.97) (81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, (21) Internationales Aktenzeichen: PCT/DE97/00172 CH, DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL, (22) Internationales Anmeldedatum: 27. Januar 1997 (27.01.97) PT, SE). (30) Prioritätsdaten: Veröffentlicht DE Ohne internationalen Recherchenbericht und erneut zu 27. Januar 1996 (27.01.96) 196 02 985.6 veröffentlichen nach Erhalt des Berichts. 7. Februar 1996 (07.02.96) DE 196 04 380.8 (71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE). (72) Erfinder; und (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MILLECK, Jürgen [DE/DE]; Rosenfelder Ring 66, D-10315 Berlin (DE). REICHARDT, Werner [DE/DE]; Fritz-Krieger-Strasse 10, D-07743 Jena (DE), BENNDORF, Rainer [DE/DE]; Strasse 52, Nr. 52, D-13125 Berlin (DE). LIEBRICH, Windfried [DE/DE]; Moselstrasse 43, D-16341 Zepernick (DE). SCHLAG, Peter [DE/DE]: Frohnauer Strasse 17 A, D-13467 Berlin (DE). (74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; BioTez Berlin-Buch GmbH, Patentstelle, Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).

- (54) Title: TUMOUR VACCINE FOR IMMUNOTHERAPY OF MALIGNANT TUMOURS
- (54) Bezeichnung: TUMORIMPFSTOFF FÜR DIE IMMUNTHERAPIE VON MALIGNEN TUMOREN

#### (57) Abstract

The invention concerns a tumour vaccine in which the immunogenicity of tumour cells, tumour associated antigens or antigen partial structures are reinforced through genetic modification or through chemical bonding to an exogenous thermal shock protein. The use of microbial thermal shock proteins or their genes is preferred which are derived from mycobacteria, Escherichia coli or from Chlamydia trachomatis.

#### (57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen Tumorimpfstoff, bei dem die Immunogenität von Tumorzellen, tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen durch gentechnische Modifizierung oder durch chemische Bindung an ein exogenes Hitzeschockprotein verstärkt wird. Bevorzugt eingesetzt werden mikrobielle Hitzeschockproteine bzw. deren Gene, die aus Mycobakterien, Escherichia coli oder aus Chlamydia trachomatis erhalten werden.

## LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

	GB	Vereinigtes Konigreich	MX	Mexiko
1	GE	Georgien	NE	Niger
1	GN	Guinea	NL	Niederlande
	GR	Griechenland	NO	Norwegen
	HU	Ungam	NZ	Neuseeland
aso	ΙE	Irland	PL.	Polen
	ΙT	Italien	PT	Portugal
	JP	Japan	RO	Rumanien
	KE	•		Russische Föderation
	KG			Sudan
	KP		SF.	Schweden
Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
	LI	Liechtenstein	SK	Slowakei
oire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
	LR	Liberia	SZ	Swasiland
	LK	Litauen	TD	Tschad
slowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
che Republik	LV	Lettland		Tadschikistan
nd	MC	Monaco	-	Trinidad und Tobago
	MD	Republik Moldau		Ukraine
	MG	•		Uganda
	ML	-		Vereinigte Staaten von Amerika
	MN		-	Usbekistan
1	MR	Mauretanien		Vietnam
	MW	Malawi	• •	
	h n Afrikanische Republik oire skowakei che Republik ind	GN   GR   HU   GR   HU   Faso   IE   IT   JP   KE   KG   KP   KF   KZ   LI   Oire   LK   LK   LK   LK   LK   LK   Che Republik   LV   Ind   MC   MC   MD   MG   ML   MN   MR   MR   MR   MR   MR   MR   MR	GE Georgien GN Guinea GR Griechenland HU Ungarn Faso IE Irland IT Italien JP Japan KE Kenya KG Kirgisistan KP Demokratische Volksrepublik Korea KR Republik Korea KZ Kasachstan LI Liechtenstein oire LK Sri Lanka LR Liberia LK Litauen LK Litauen LK Litauen LK Litauen LK Lettland MC Monaco MD Republik Moldau MG Madagaskar ML Mali MN Mongolei MN Mongolei MN Mongolei MN Mongolei MN Mongolei MN Mauretanien	GE   Georgien   NE

WO 97/26910 PCT/DE97/00172

## Tumorimpfstoff für die Immuntherapie von malignen Tumoren

## Beschreibung

15

20

25

30

Die Erfindung betrifft die Herstellung eines Impfstoffes aus gentechnisch modifizierten Tumorzellen beziehungsweise aus biochemisch isolierten tumorassoziierten Antigenen oder synthetisch hergestellten antigenen Teilstrukturen für die Immuntherapie von malignen Tumoren. Anwendungsgebiete der Erfindung sind die Medizin und die pharmazeutische Industrie.

Die grundlegende Therapie solider maligner Tumoren ist die chirurgische oder strahlentherapeutische Entfernung des Primärtumors. Bei systemischen Formen der Krebser-krankung oder chirurgisch nicht erreichbaren Tumormetastasen führt man eine Chemotherapie durch oder versucht eine biologische Therapie. Theoretisch gesehen ist die Erzeugung einer gegen Krebszellen gerichteten Immunantwort, die zur Zerstörung der Krebszellen führt, das gesunde Gewebe aber nicht behelligt, die optimale Methode, um Tumormetastasen zu bekämpfen. Daß es prinzipiell möglich ist, eine gegen Krebszellen gerichtete Immunantwort zu erzeugen, wird durch Ergebnisse von Impfversuchen mit tierexperimentellen Tumoren sowie auch mit einigen Tumoren des Menschen belegt.

Es sind jedoch noch Hemmnisse zu überwinden, ehe diese Form der aktiven spezifischen Immunisierung zur Therapie von Krebserkrankungen eine breitere klinische Anwendung finden kann. Eines der größten Hemmnisse ist die geringe Immunogenität spontan entstandener Tumoren. Unstrittig ist, daß die meisten Tumoren, auch diejenigen des Menschen, tumorassoziierte Antigene besitzen, durch die sie sich vom gesunden Gewebe unterscheiden. Da Tumoren jedoch körpereigenes Gewebe darstellen, registriert das Immunsystem lediglich die Existenz tumorassoziierter Antigene auf den malignen Zellen, ist aber von sich aus nicht in

der Lage, eine wirksame Abwehrreaktion gegen die nativen Tumorzellen zustandezubringen.

Um eine wirksame immunologische Abwehrreaktion gegen maligne Tumoren hervorzurufen, ist es unerläßlich, die Im-5 munogenität derjenigen Tumorzellen oder tumorassoziierten Antigene mit denen man eine Impfung vornehmen will, künstlich zu verstärken. Bei Tumorzellimpfstoffen kann dieses dadurch geschehen, daß man die Tumorzellen chemisch, enzymatisch oder durch Hinzufügen apathogener Vi-10 ren bzw. abgeschwächter Tuberkelbakterien (BCG) äußerlich modifiziert oder gentechnisch durch Übertragung z.B. eines Zytokingens verändert (Specific Immunotherapy of Cancer with Vaccines, eds. Bystryn et al., Ann NY Acad Sci Pardoll, Curr Opin Immunol 4, 619-623 (1993); 15 (1992)). Subzelluläre, lösliche tumorassoziierte Antigene, z.B. Proteine oder Peptide mit entsprechenden immundominanten Epitopen aus Melanomzellen (van der Bruggen et al., Science 254, 1643-1647 (1991), Adenokarzinomen (Taylor-Papadimitriou et al., Ann NY Acad Sci 690, 69-79 20 (1993)) oder anderen Tumoren (Slingluff et al., Curr Opin Immunol 6, 733-740 (1994)) müssen an ein immunogenes Trägermolekül gebunden werden, um ihre schwache Immunogenität zu verstärken bzw. sie überhaupt immunogen zu machen. Peptide ohne Trägermolekül wirken in der Regel lediglich 25 als Hapten, d.h. sie reagieren zwar mit einem entsprechenden peptidspezifischen Antikörper, können aber selbst keine Immunantwort hervorrufen. Als Trägermolekül werden bestimmte Serumproteine oder bakterielle Toxoide verwendet. Vor der Impfung wird dem Konjugat aus Peptid und 30 Trägermolekül üblicherweise ein Adjuvans zugefügt, wodurch die Immunantwort nochmals verstärkt wird.

Prinzipiell wird die Immunantwort erkennbar an Hand der Bildung antigenspezifischer Antikörper und/oder T-Lymphozyten. Wie Ergebnisse von tierexperimentellen Untersuchungen und in-vitro-Tests mit humanen Tumorzellen zeigen, kommt es bei der Erzeugung einer therapeutisch

WO 97/26910 PCT/DE97/00172

wirksamen Immunantwort gegen Krebszellen in erster Linie auf eine durch T-Lymphozyten vermittelte Immunität an und weniger auf die Bildung von Antikörpern (Hellström and Hellström, Ann NY Acad Sci 690, 24-33 (1993)). Allerdings existieren bisher keine klaren Vorstellungen darüber, wie man bei einer Impfung von Tumorpatienten mit tumorassoziierten Antigenen oder kurzkettigen Peptiden verfahren muß, um vor allem die Bildung tumorantigenspezifischer T-Lymphozyten hervorzurufen (Time of Truth for Cancer Vaccines, J Natl Cancer Inst 86, 330-331 (1994)).

Das Ziel der vorliegenden Erfindung war es deshalb, einen Tumorimpfstoff bereitzustellen, der es gestattet, sowohl Tumorzellen als auch tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen für eine wirksame Abwehrreaktion gegen native Tumorzellen einzusetzen. Die Aufgabe der Erfindung bestand dabei darin, die Immunogenität von als Impfstoff verwendeten Tumorzellen, tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen durch gentechnische Modifizierung der Tumorzellen beziehungsweise durch biochemische Modifizierung von tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen wirksam zu verstärken und dabei insbesondere die durch T-Lymphozyten vermittelte Immunität zu stimulieren.

25

30

35

10

15

20

Überraschend konnte diese Aufgabe durch gentechnische Modifizierung von Tumorzellen, die erfindungsgemäß zusätzlich das Gen eines exogenen Hitzeschockproteins enthalten oder durch Bindung von tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen an ein exogenes Hitzeschockprotein gelöst werden.

Der erfindungsgemäße Tumorimpfstoff enthält Tumorzellen, die das Gen eines exogenen Hitzeschockproteins enthalten beziehungsweise tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen, die an ein exogenes Hitzeschockprotein gebunden sind.

WO 97/26910 PCT/DE97/00172

Bevorzugt wird ein mikrobielles Hitzeschockprotein beziehungsweise sein Gen verwendet. Besonders bevorzugt sind
das Gen von Hitzeschockproteinen beziehungsweise Hitzeschockproteine aus Mycobakterien, Escherichia coli und
aus Chlamydia trachomatis, insbesondere sind es die Hitzeschockproteine HSP65 und HSP70 aus Mycobakterien, HSP70
aus Escherichia coli (DnaK) sowie HSP60 und HSP70 aus
Chlamydia trachomatis.

- Zur Herstellung des Tumorimpfstoffes eignen sich autologe Tumorzellen, die mit Hilfe mechanischer oder enzymatischer Methoden aus chirurgisch entferntem Tumorgewebe isoliert werden. Tumorzellinien, die von allogenen Tumoren gleicher Histologie stammen, können ebenfalls verwendet werden, ein Beispiel dafür sind Zellen einer Colonkarzinomlinie, wie z.B. die Linien LS174T oder LOVO. Der Impfstoff wird postoperativ verabfolgt, vor der Applikation werden die Tumorzellen durch radioaktive Bestrahlung devitalisiert.
- Infolge der Bereitstellung dieses erfindungsgemäßen Tumorimpfstoffes durch Einschleusen des Gens eines exogenen Hitzeschockproteins und dessen Expression werden die Tumorzellen nachhaltig verfremdet und damit stärker immunogen. Das Gen des Hitzeschockproteins wird z.B. in den Vektor pcDNA3 (Invitrogen Corp.) insertiert. Die Einschleusung und Expression des Gens eines Hitzeschockproteins erfolgt nach an sich bekannten Methoden, wie z.B. durch Transfektion mit dem liposomalen Reagenz DOTAP (Boehringer Mannheim GmbH) nach Felgner et al. Proc Natl Acad Sci USA 84 (1987), 7413-7417, Li et al. Biochemica, 30-31 (1995).

Danach können Tumorimpfstoffe für die Behandlung von Patienten mit Karzinom, Sarkom, malignem Melanom, Leukämie oder malignem Lymphom hergestellt werden.

Gemäß der Erfindung werden auch biochemisch isolierte tumorassoziierte Antigene und synthetisch hergestellte an-

35

tigene Teilstrukturen verwendet. Ein tumorassoziiertes Antigen ist beispielsweise das Carcinoembryonale Antigen. Als synthetisch hergestellte antigene Teilstrukturen werden gemäß der Erfindung synthetisch hergestellte Mucinpeptide, insbesondere Monomere und Oligomere der Mucinpeptide MUC1 und MUC2 eingesetzt.

Der Tumorimpfstoff wird nach an sich üblichen Methoden unter sterilen Kautelen hergestellt, in dem das Hitzeschockprotein chemisch an die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen gebunden wird.

10

Mit dem erfindungsgemäßen Tumorimpfstoff wird eine neuartige Strategie verfolgt. Durch die gentechnische Modifizierung von Tumorzellen mit dem Gen eines Hitzeschockproteins beziehungseise durch die Bindung an ein exogenes Hitzeschockprotein wird überraschend die Immunogenität von Tumorzellen und von tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen wirksam verstärkt, d.h. es wird dadurch erstmalig möglich, auch tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen gezielt einzusetzen und dadurch die durch T-Lymphozyten vermittelte Immunität zu stimulieren.

Die erfindungsgemäßen Tumorimpfstoffe werden für die Behandlung von Patienten mit Karzinom, Sarkom oder malignem Melanom verwendet und vorzugsweise postoperativ verabfolgt.

### Patentansprüche

Tumorimpfstoff für die Immuntherapie von Tumoren enthaltend Tumorzellen, tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen, wobei die Tumorzellen das Gen eines exogenen Hitzschockproteins enthalten, und die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen an ein exogenes Hitzeschockprotein gebunden sind.

10

5

2. Tumorimpfstoff nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß als Tumorzellen devitalisierte autologe oder allogene Tumorzellen eingesetzt werden.

15

20

25

30

- 3. Tumorimpfstoff nach Anspruch 1, dadurch gekennzeichnet, daß die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen biochemisch isoliert oder synthetisch hergestellt werden.
- 4. Tumorimpfstoff nach einem der Ansprüche 1 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß als tumorassoziierte Antigene oder antigene Teilstrukturen synthetisch hergestellte Mucinpeptide verwendet werden.
- 5. Tumorimpfstoff nach Anspruch 4,
  dadurch gekennzeichnet, daß
  synthetisch hergestellte Monomere oder Oligomere der
  Mucinpeptide MUC1 und MUC2 verwendet werden.
  - Tumorimpfstoff nach einem der Ansprüche 1 oder 3, dadurch gekennzeichnet, daß
- als tumorassoziiertes Antigen oder antigene Teilstrukturen Carcinoembryonales Antigen oder antigene Teilstrukturen des Carcinoembryonalen Antigens verwendet werden.

7

- 7. Tumorimpfstoff nach einem der Ansprüche 1 bis 6, dadurch gekennzeichnet, daß das exogene Hitzeschockprotein ein mikrobielles Hitzeschockprotein ist.
- Tumorimpfstoff nach Anspruch 7, 8. dadurch gekennzeichnet, daß das Hitzeschockprotein das Protein HSP65 aus Mycobak-10 terien ist.

5

35

- 9. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Hitzeschockprotein das Protein HSP70 aus Mycobakterien ist. 15
- 10. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Hitzeschockprotein das Protein HSP70 aus Escheri-20 chia coli (DnaK) ist.
- 11. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Hitzeschockprotein das Protein HSP60 aus Chlamy-25 dia trachomatis ist.
- 12. Tumorimpfstoff nach Anspruch 7, dadurch gekennzeichnet, daß das Hitzeschockprotein das Protein HSP70 aus Chlamy-30 dia trachomatis ist.
  - 13. Verwendung eines Tumorimpfstoffes nach einem der Ansprüche 1 bis 12 zur Behandlung von Patienten mit Karzinom, Sarkom, malignem Melanom, Leukämie oder malignem Lymphom.

- 14. Verfahren zur Herstellung eines Tumorimpfstoffes nach einem der Ansprüche 1,2 und 7 bis 12, dadurch gekennzeichnet, daß man in Tumorzellen die cDNA des Gens eines Hitzeschockproteins einschleust und dort zur Expression bringt.
- 15. Verfahren zur Herstellung eines Tumorimpfstoffs für die Immuntherapie nach den Ansprüchen 1 und 3 bis 12,
   10 dadurch gekennzeichnet, daß das Hitzschockprotein an die tumorassoziierten Antigene oder antigenen Teilstrukturen gebunden wird.

#### WELTORGANISATION FÜR GEISTIGES EIGENTUM Internationales Büro

INTERNATIONALE ANMELDUNG VERÖFFENTLICHT NACH DEM VERTRAG ÜBER DIE INTERNATIONALE ZUSAMMENARBEIT AUF DEM GEBIET DES PATENTWESENS (PCT)

(51) Internationale Patentklassifikation <sup>6</sup>:

A61K 39/00, 39/385

(11) Internationale Veröffentlichungsnummer:

WO 97/26910

**A3** 

DE

DE

(43) Internationales Veröffentlichungsdatum:

31. Juli 1997 (31.07.97)

(21) Internationales Aktenzeichen:

PCT/DE97/00172

(22) Internationales Anmeldedatum: 27. Januar 1997 (27.01.97)

(81) Bestimmungsstaaten: JP, US, europäisches Patent (AT, BE, CH. DE, DK, ES, FI, FR, GB, GR, IE, IT, LU, MC, NL,

PT. SE).

(30) Prioritätsdaten:

196 02 985.6 196 04 380.8

27. Januar 1996 (27.01.96)

7. Februar 1996 (07.02,96)

Veröffentlicht

Mit internationalem Recherchenbericht.

Vor Ablauf der für Änderungen der Ansprüche zugelassenen Frist. Veröffentlichung wird wiederholt falls Änderungen eintreffen.

(71) Anmelder (für alle Bestimmungsstaaten ausser US): MAX-DELBRÜCK-CENTRUM FÜR MOLEKULARE MEDIZIN [DE/DE]; Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).

(72) Erfinder; und

- (75) Erfinder/Anmelder (nur für US): MILLECK, Jürgen [DE/DE]: Rosenfelder Ring 66, D-10315 Berlin (DE). REICHARDT, Werner [DE/DE]; Fritz-Krieger-Strasse 10, D-07743 Jena (DE). BENNDORF, Rainer [DE/DE]; Strasse 52, Nr. 52, D-13125 Berlin (DE). LIEBRICH, Windfried [DE/DE]: Moselstrasse 43, D-16341 Zepernick (DE). SCHLAG, Peter [DE/DE]; Frohnauer Strasse 17 A, D-13467 Berlin (DE).
- (74) Anwalt: BAUMBACH, Fritz; BioTez Berlin-Buch GmbH. Patentstelle, Robert-Rössle-Strasse 10, D-13125 Berlin (DE).

(88) Veröffentlichungsdatum des internationalen Recherchenberichts: 2. Oktober 1997 (02.10.97)

- (54) Title: TUMOUR VACCINE FOR IMMUNOTHERAPY OF MALIGNANT TUMOURS
- (54) Bezeichnung: TUMORIMPFSTOFF FÜR DIE IMMUNTHERAPIE VON MALIGNEN TUMOREN

#### (57) Abstract

The invention concerns a tumour vaccine in which the immunogenicity of tumour cells, tumour associated antigens or antigen partial structures are reinforced through genetic modification or through chemical bonding to an exogenous thermal shock protein. The use of microbial thermal shock proteins or their genes is preferred which are derived from mycobacteria, Escherichia coli or from Chlamydia trachomatis.

#### (57) Zusammenfassung

Die Erfindung betrifft einen Tumorimpfstoff, bei dem die Immunogenität von Tumorzellen, tumorassoziierten Antigenen oder antigenen Teilstrukturen durch gentechnische Modifizierung oder durch chemische Bindung an ein exogenes Hitzeschockprotein verstärkt wird. Bevorzugt eingesetzt werden mikrobielle Hitzeschockproteine bzw. deren Gene, die aus Mycobakterien, Escherichia coli oder aus Chlamydia trachomatis erhalten werden.

## LEDIGLICH ZUR INFORMATION

Codes zur Identifizierung von PCT-Vertragsstaaten auf den Kopfbögen der Schriften, die internationale Anmeldungen gemäss dem PCT veröffentlichen.

AM	Armenien	GB	Vereinigtes Königreich	MX	Mex iko
AT	Osterreich	GE	Georgien	NE	Niger
ΑÜ	Australien	GN	Guinea	NL	Niederlande
BB	Barbados	GR	Griechenland	NO	Norwegen
BE	Belgien	HU	Ungami	NZ	Neuseeland
BF	Burkina Faso	îΕ	Irland	PL	Polen
BG	Bulgarien	IT	Italien	PT	Portugal
BJ	Benin	JP	Japan	RO	Rumânien
BR	Brasilien	KE	Kenya	RU	Russische Föderation
BY	Belarus	KG	Kirgisistan	SD	Sudan
CA	Kanada	KP	Demokratische Volksrepublik Korea	SE	Schweden
CF	Zentrale Afrikanische Republik	KR	Republik Korea	SG	Singapur
CG	Kongo	KZ	Kasachstan	SI	Slowenien
CH	Schweiz	LI	Liechtenstein	SK	Slowakei
Cl	Côte d'Ivoire	LK	Sri Lanka	SN	Senegal
CM	Kamerun	LR	Liberia	SZ	Swasiland
- CN	China	LK	Litauen	TD	Tsched
CS	Tschechoslowakei	LU	Luxemburg	TG	Togo
CZ	Tschechische Republik	LV	Lettland	TJ	Tadschikistan
DE	Deutschland	MC	Moneco	TT	Trinidad und Tobago
DK	Dänemark	MD	Republik Moldau	UA	Ukraine
EE	Estland	MG	Madagaskar	υG	Uganda
ES	Spanien	ML	Mali	US	Vereinigte Staaten von Amerika
FI	Finnland	MN	Mongolei	UZ	Usbekistan_
FR	Frankreich	MR	Mauretanien	VN	Vietnam
GA	Gabon	MW	Malawi		

		PCT/DE 97	7/00172
A. CLASS	A61K39/00 A61K39/385		
According t	to International Patent Classification (IPC) or to both national class	fication and IPC	
	S SEARCHED  cocumentation searched (classification system followed by classification)	ton symbols)	
IPC 6	A61K	, ,	
Documenta	tion searched other than minimum documentation to the extent that	such documents are included in the fields	searched
Electronic	data base consulted during the international search (name of data ba	se and, where practical, search terms used	
C. DOCUM	AENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT		
Category *	Citation of document, with indication, where appropriate, of the r	cievant passages	Relevant to claim No.
Х	WO 94 11513 A (MEDICAL RES COUNCIL; COLSTON MICHAEL JOSEPH (GB); LOWRIE DOUGLAS () 26 May 1994 see page 1, line 28 - page 12, line 3		1
х	TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, vol. 14, January 1996, CAMBRIDGE GB, pages 17-20, XP002037582 SATISH JINDAL: "HEAT SHOCK PROTEINS: APPLICATIONS IN HEALTH AND DISEASE" see the whole document		1
XFur	ther documents are listed in the continuation of box C.	X Patent family members are listed	in annex.
'A' docum consider filing 'L' docum which citate 'O' docum other 'P' docum	nent defining the general state of the art which is not dered to be of particular relevance.  I document but published on or after the international date detect to be obtained to be of particular relevance.  I document but published on or after the international date date.  I document but published on priority claim(s) or its cited to establish the publication date of another on or other special reason (as specified) on the international filling to the international filling date but than the priority date claimed.	"T" later document published after the in or priority date and not in conflict victed to understand the principle or invention."  "X" document of particular relevance; the cannot be considered novel or cannot involve an inventive step when the considered to involve an document of particular relevance; the cannot be considered to involve an document is combined with one or inneits, such combination being obtain the art.  "&" document member of the same pater	onth the application but theory underlying the considered to locument is taken alone or distribution invention support when the more other such docu-
	2 August 1997	Date of mailing of the international s	search report
Name and	mailing address of the ISA  European Patent Office, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo ni, Fax (+31-70) 340-3016	Authonzed officer  Rempp, G	

Intern ial Application No PCT/DE 97/00172

C(Contract	ation) DOCUMEN'TS CONSIDERED TO BE RELEVANT	PCT/DE 97/00172	
Category *			
	and manages, where appropriate, or the relevant passages	Relevant to claim No.	
x	JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, vol. 14, November 1993, pages 352-356, XP002037576 NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN VACCINES AGAINST CANCER" see the whole document	1	
X	SEMINARS IN CANCER BIOLOGY, vol. 6, December 1995, pages 349-355, XP002037577 NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-BASED CANCER VACCINES AND RELATED THOUGHTS ON IMMUNOGENICITY OF HUMAN TUMORS" see the whole document	1	
X	CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY, vol. 6, 1994, LONDON GB, pages 728-732, XP002037578 PRAMOD K. SRIVASTAVA ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES IN CANCER IMMUNOTHERAPY" see the whole document	1	
X,P	INFECTION AND IMMUNITY, vol. 64, no. 7, July 1996, WASHINGTON US, pages 2400-2407, XP002037579 CELIO L. SILVA ET AL.: "CHARACTERIZATION OF T CELLS THAT CONFER A HIGH DEGREE OF PROTECTIVE IMMUNITY AGAINST TUBERCULOSIS IN MICE AFTER VACCINATION WITH TUMOR CELLS EXPRESSING MYCOBACTERIAL HSP65" see the whole document	1	
X,P	JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY, vol. 60, August 1996, pages 153-158, XP002037580 MICHAEL HEIKE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES FOR USE IN VACCINES" see the whole document	1	
X,P	EUR. J. IMMUNOL., vol. 26, November 1996, pages 2559-2564, XP002037581 TAMÁS SCHWEIGHOFFER: "TUMOR CELLS EXPRESSING A RECALL ANTIGEN ARE POWERFUL CANCER VACCINES" see the whole document	1	

2

Form PCT/ISA/210 (continuation of second sheet) (July 1992)

International application No. PCT/DE 97/00172

Box I	Observations where certain claims were found unsearchable (Continuation of item 1 of first sheet)
This inte	emational search report has not been established in respect of certain claims under Article 17(2)(a) for the following reasons:
1. X	Claims Nos.: 13 because they relate to subject matter not required to be searched by this Authority, namely:
	Remark: Although claim 13 relates to a method for treatment of the human or animal body, ne search was carried out, based on the alleged effects of the compound or composition.  Claims Nos.:  because they relate to parts of the international application that do not comply with the prescribed requirements to such an extent that no meaningful international search can be carried out, specifically:
3.	Claims Nos.: because they are dependent claims and are not drafted in accordance with the second and third sentences of Rule 6.4(a).
Box U	Observations where unity of invention is lacking (Continuation of item 2 of first sheet)
I his Inte	emational Searching Authority found multiple inventions in this international application, as follows:
I.	As all required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers all searchable claims.
2.	As all searchable claims could be searched without effort justifying an additional fee, this Authority did not invite payment of any additional fee.
3.	As only some of the required additional search fees were timely paid by the applicant, this international search report covers only those claims for which fees were paid, specifically claims Nos.:
4.	No required additional search fees were timely paid by the applicant. Consequently, this international search report is restricted to the invention first mentioned in the claims; it is covered by claims Nos.:
Remark	on Protest  The additional search fees were accompanied by the applicant's protest.  No protest accompanied the payment of additional search fees

Information on patent family members

Interna J Application No PCT/DE 97/00172

Patent document cited in search report	Publication date	Patent family member(s)	Publication date
WO 9411513 A	26-05-94	AU 5430794 A	08-06-94
		CA 2149309 A	26-05-94
		EP 0670899 A	13-09-95
		JP 8503132 T	09-04-96

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Intern ales Aktenzeichen
PCT/DE 97/00172

			<del></del>
A. KLAS IPK 6	SIFIZIERUNG DES ANMELDUNGSGEGENSTÄNDES A61K39/00 A61K39/385		
Nach der I	Internationalen Patentklassifikation (IPK) oder nach der nationalen	Klassiikation und der IPK	
B. RECH	ERCHIERTE GEBIETE		
Recherchie IPK 6	erter Mindestprüfstoff (Klassifikationssystem und Klassifikationssyr A61K	mbole )	
Recherchie	erte aber nicht zum Mindestprüfstoff gehörende Veröffentlichungen.	, soweit diese unter die recherchierten Gebie	te (allen
Wahrend d	ter internationalen Recherche konsultierte elektronische Datenbank	(Name der Datenbank und evtl. verwendete	e Suchbegnife)
C. ALS W	ESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN		
Kategone*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Ang	abe der in Betracht kommenden Teile	Betr. Anspruch Nr.
X	WO 94 11513 A (MEDICAL RES COUNC ;COLSTON MICHAEL JOSEPH (GB); LO DOUGLAS () 26.Mai 1994 siehe Seite 1, Zeile 28 - Seite 3	WRIE	1
X	TRENDS IN BIOTECHNOLOGY, Bd. 14, Januar 1996, CAMBRIDGE Seiten 17-20, XP002037582 SATISH JINDAL: "HEAT SHOCK PROTEINS:APPLICATIONS IN HEALTH DISEASE" siehe das ganze Dokument	ŕ	1
X West	kere Veröffentlichungen sind der Fortsetzung von Feld C zu	X Siehe Anhang Patent/amilie	
- cuan	ehmen  Kategorien von angegebenen Veröffentlichungen:	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	
A. Veröffe aber n	endichung, die den allgemeinen Stand der Technik definiert, ucht als besonders bedeutsam anzusehen ist Dokument, das jedoch erst am oder nach dem internationalen	T' Spater Veroffentichung, die nach dem oder dem Prionitisdamm veröffentlich Anmeldung nicht kollidiert, sondern ni Erfindung zugrundeliegenden Prinzips	t worden ist und mit der ir zum Verständnis des der
"L" Veröffe scheine andere soll od ausgefi "O" Veröffe eine B- "P" Veröffe dem be	idedaum veröffentlicht worden ist  mitlichung, die geeignet ist, einen Prioritätsanspruch zweiselhaft er- en zu lassen, oder durch die das Veröffentlichungsdatum einer  m. im Recherchenbericht genannten Veröffentlichung belegt werden  ker die aus einem anderen besonderen Grund angegeben ist (wie  kihrt)  entlichung, die sich auf eine mündliche Offenbarung,  entzeung, eine Ausstellung oder andere Maßnahmen bezieht  mitlichung, die vor dem internationalen Anmeldedaum, aber nach  eanspruchten Prioritätsdatum veröffentlicht worden ist	Theorie angegeben ist  'X' Veröffentlichung von besonderer Bedet kann allein aufgrund dieser Veröffentli erfinderischer Tätigkeit berühend betra  'Y' Veröffentlichung von besonderer Bedet kann nicht als auf erfinderischer Tätigli werden, wenn die Veröffentlichung mit Veröffentlichungen dieser Kategorie in diese Verbindung für einen Fachmann  '&' Veröffentlichung, die Mitglied derselbe	nung die beanspruchte Erfindung chung nicht als neu oder auf chtet werden nung die beanspruchte Erfindung eit beruhend betrachtet einer oder mehreren anderen Verbindung gebracht wird und nabeliegend ist n Patentfamilie ist
	Abschlusses der internationalen Recherche  2. August 1997	Absendedatum des internationalen Rec	herchenberichts
	Postanschrift der Internationale Recherchenbehörde Europaisches Patentami, P.B. 5818 Patentiaan 2	Bevollmächtigter Bediensteter	
	NL - 2280 HV Rijstorja Tel. (+ 31-70) 340-2040, Tx. 31 651 epo nl,	Remnn G	

. 2

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Interr. sales Akternzeichen
PCT/DE 97/00172

		PCT/DE 97/00172		
C.(Fortsetzung) ALS WESENTLICH ANGESEHENE UNTERLAGEN				
Kategorie*	Bezeichnung der Veröffentlichung, soweit erforderlich unter Angabe der in Betracht komme	nden Teile Betr. Anspruch Nr.		
X	JOURNAL OF IMMUNOTHERAPY, Bd. 14, November 1993, Seiten 352-356, XP002037576 NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN VACCINES AGAINST CANCER" siehe das ganze Dokument	1		
<b>x</b>	SEMINARS IN CANCER BIOLOGY, Bd. 6, Dezember 1995, Seiten 349-355, XP002037577 NATHALIE E. BLACHERE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-BASED CANCER VACCINES AND RELATED THOUGHTS ON IMMUNOGENICITY OF HUMAN TUMORS" siehe das ganze Dokument	1		
x	CURRENT OPINION IN IMMUNOLOGY, Bd. 6, 1994, LONDON GB, Seiten 728-732, XP002037578 PRAMOD K. SRIVASTAVA ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES IN CANCER IMMUNOTHERAPY" siehe das ganze Dokument	1		
X,P	INFECTION AND IMMUNITY, Bd. 64, Nr. 7, Juli 1996, WASHINGTON US, Seiten 2400-2407, XP002037579 CELIO L. SILVA ET AL.: "CHARACTERIZATION OF T CELLS THAT CONFER A HIGH DEGREE OF PROTECTIVE IMMUNITY AGAINST TUBERCULOSIS IN MICE AFTER VACCINATION WITH TUMOR CELLS EXPRESSING MYCOBACTERIAL HSP65" siehe das ganze Dokument	1		
X,P	JOURNAL OF LEUKOCYTE BIOLOGY, Bd. 60, August 1996, Seiten 153-158, XP002037580 MICHAEL HEIKE ET AL.: "HEAT SHOCK PROTEIN-PEPTIDE COMPLEXES FOR USE IN VACCINES" siehe das ganze Dokument	1		
X,P	EUR. J. IMMUNOL., Bd. 26, November 1996, Seiten 2559-2564, XP002037581 TAMÁS SCHWEIGHOFFER: "TUMOR CELLS EXPRESSING A RECALL ANTIGEN ARE POWERFUL CANCER VACCINES" siehe das ganze Dokument			

.mationales Aktenzeichen

### INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

PCT/DE 97/00172

Feid I	Bemerkungen zu den Ansprüchen, die sich als nicht recherchierbar erwiesen haben (Fortsetzung von Punkt 1 auf Blatt 1)
Gemill	Artikel 17(2)a) wurde aus folgenden Gründen für bestimmte Ansprüche kein Recherchenbericht erstellt:
1. X	Ansprüche Nr. 13 weil Sie sich auf Gegenstände beziehen, zu deren Recherche die Behörde nicht verpflichtet ist, nämlich Bemerkung: Obwohl die Ansprüche 13 sich auf ein Verfahren zur Behandlung des menschlichen/tierischen Körpers bezieht, wurde die Recherche durch- geführt und gründete sich auf die angeführten Wirkungen der Verbindung/ Zusammensetzung.
2.	Ansprüche Nr. weil sie sich auf Teile der internationalen Anmeldung beziehen, die den vorgeschriebenen Anforderungen so wenig entsprechen, daß eine sinnvolle internationale Recherche nicht durchgeführt werden kann, nämlich
3.	Ansprüche Nr. weil es sich dabei um abhängige Ansprüche handelt, die nicht entsprechend Satz 2 und 3 der Regel 6.4 a) abgefaßt sind.
Feld II	Bemerkungen bei mangelnder Einheitlichkeit der Erfindung (Fortsetzung von Punkt 2 auf Blatt 1)
	rnauonale Recherchenbehörde hat festgestellt, daß diese internationale Anmeldung mehrere Erfindungen enthält:
1.	Da der Anmelder alle erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht auf alle recherchierbaren Anspruche der internationalen Anmeldung.
2.	Da für alle recherchierbaren Ansprüche die Recherche ohne einen Arbeitsaufwand durchgeführt werden konnte, der eine zusatzliche Recherchengebühr gerechtferugt hätte, hat die Internationale Recherchenbehorde nicht zur Zahlung einer solchen Gebühr aufgefordert.
3.	Da der Anmelder nur einige der ersorderlichen zusätzlichen Recherchengebühren rechtzeitig entrichtet hat, erstreckt sich dieser internationale Recherchenbericht nur auf die Ansprüche der internationalen Anmeldung, für die Gebühren entrichtet worden sind, nämlich auf die Ansprüche Nr.
4.	Der Anmelder hat die erforderlichen zusätzlichen Recherchengebühren nicht rechtzeitig entrichtet. Der internationale Recherchenbericht beschränkt sich daher auf die in den Ansprüchen zuerst erwahnte Erfindung; diese ist in folgenden Ansprüchen erfaßt:
Bemerku	Die Zusätzlichen Gebühren wurden vom Anmelder unter Widerspruch gezahlt.  Die Zahlung zusätzlicher Gebühren erfolgte ohne Widerspruch.

## INTERNATIONALER RECHERCHENBERICHT

Angaben zu Veroffentlichungen, die zur selben Patentfamilie gehoren

Interne des Aktenzeichen
PCT/DE 97/00172

Im Recherchenbericht angeführtes Patentdokument	Datum der	Mitglied(cr) der	Datum der
	Veröffentlichung	Patentfamilie	Veroffentlichung
WO 9411513 A	26-05-94	AU 5430794 A CA 2149309 A EP 0670899 A JP 8503132 T	08-06-94 26-05-94 13-09-95 09-04-96